わが国のイネ遺伝資源における発芽期低温耐性の遺伝変異

Fátima Bosetti¹⁾ · Camila Montebelli¹⁾ · Ana Dionísia L.C. Novembre²⁾ · Helena Pescarin Chamma²⁾ · José Baldin Pinheiro¹⁾

(1) Genetics Department, "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, University of São Paulo, Brazil, 2) Crop Sciences Departament, "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, University of São Paulo, Brazil)

生育初期の低温はイネの迅速な発芽や苗立ちを阻害し、生産性を有意に減少させることにもなる。耐冷性イネ品種を育成するためには、遺伝資源の解析が必要である。その解析結果から、遺伝資源が保有する低温下での発芽能力関連遺伝子を主力品種に導入するための基礎的知見が得られる。13°Cで28日間(低温条件)と28°Cで7日間(適温条件)の2条件で日本品種の発芽を評価した。評価形質は適温条件と低温条件での子葉鞘長と

種子根長および低温による子葉鞘長と種子根長の減少率であった. 低温条件での発芽関連形質には品種変異が認められ、中にはすべての形質について十分な値を示す品種が認められた. 多変量解析に基づいて, 低温による子葉鞘長と種子根長の減少率が小さく, 低温条件でも子葉鞘と種子根の成長が高いことから, 低温耐性品種を同定することができた.

Breeding Science 62: 209-215 (2012)

冠水耐性遺伝子 SUB1 を戻し交雑育種によってイネ主要品種に導入する際に,遺伝的背景を表現型指標で選抜する場合と DNA マーカーで選抜する場合の比較検討

Khandakar M. Iftekharuddaula¹⁾ · Muhammad A. Salam¹⁾ · Muhammad A. Newaz²⁾ · Helal U. Ahmed¹⁾ · Bertrand C.Y. Collard³⁾ · Endang M. Septiningsih³⁾ · Darlene L. Sanchez³⁾ · Alvaro M. Pamplona³⁾ · David J. Mackill³⁾

(1) Bangladesh Rice Research Institute, Bangladesh, 2) Bangladesh Agricultural University, Bangladesh, 3) International Rice Research Institute, Philippines)

冠水耐性遺伝子 SUBI を主要イネ品種へ導入する際には、遺伝的背景の DNA マーカー選抜と組み合わせた連続戻し交雑が有効であることが知られているが、費用が嵩むことが難点である。本研究では、冠水耐性遺伝子 SUBI 導入の際に、主要イネ品種の遺伝的背景に近づけるために、戻し交雑後代個体の遺伝的背景の表現型指標による選抜と DNA マーカー選抜の有効性について比較検討した。 BC_1F_1 世代では、遺伝的背景の表現型指標(低値ほど受容親に近似される)と DNA マーカーによって推定された受容親のゲノム量との間に負の相関(相関係数:-0.78)がみられ、 BC_1F_1 世代では遺伝的背景の DNA マーカーによる選抜を避けるべきことが示された。次に、 BC_2F_1 , BC_3F_2 世代では、遺伝的背景の表現型指標と DNA マーカーによって推定された受容親のゲノム量との間に相関がみられず、これらの世代では遺伝的背景の表現型指標による選抜が有効で

ないことが示された。さらに、SUBI を保有する BC_3F_1 個体に導入された SUBI 近傍の供与親ゲノム断片が概ね $17\,Mb$ であり連鎖ひきずりがみられた。SUBI を保有する BC_3F_1 個体の中から、受容親の遺伝的背景に最も近似する表現型指標をもつ個体を自殖させ、得られた戻し交雑組換え自殖系統の中から、SUBI を保有し主要イネ品種に最も近い遺伝的背景をもつ系統 (BC_3F_4) を得た。以上のように、SUBI の DNA マーカー選抜を実施しつつ、 BC_3F_1 以降の各戻し交雑世代で DNA マーカー選抜した個体の中から受容品種に最も類似した個体を表現型指標によって選抜し、後代系統を育成する方法は、高精度な遺伝子型決定設備を保有しない国や地域において、主要品種に冠水耐性遺伝子SUBI を導入する上でふさわしい方法である。

Breeding Science 62: 216–222 (2012)

日本水稲品種の出穂期変異は育種選抜形質の QTL 検出を阻む

堀 清純 $^{1)}$ ・片岡知守 $^{2)}$ ・三浦清之 $^{3)}$ ・山口誠之 $^{4)}$ ・坂 紀邦 $^{5)}$ ・中原孝博 $^{6)}$ ・春原嘉弘 $^{7)}$ ・江花薫子 $^{1)}$ ・ 矢野昌裕 $^{1)}$

(1)農業生物資源研究所, 2)九州沖縄農業研究センター, 3)中央農業総合研究センター・北陸研究センター, 4)東北農業研究センター, 5)愛知県農業総合試験場, 6)宮崎県総合農業試験場, 7)作物研究所)

日本晴とコシヒカリの戻し交雑自殖系統群 (BILs) 100 系統を国内の6ヵ所の試験研究機関で栽培し、育種選抜時に評価する農業形質を評価した. 調査した50形質中,33形質が到穂日数と有意な相関を示した.647個の一塩基多型 (SNP)を含む連鎖地図を用いたQTL解析を行い、38形質で合計122個のQTLを検出した.この中で58個は既報の出穂期遺伝子Hd16およびHd17の周辺に、64個はそれ以外の染色体領域に検出された.出穂期遺伝子の染色体領域をコシヒカリ型に置換した51系統のBILsのQTL解析では、40個のQTLを検出できた.農業形質の

多くは出穂期の変異に大きく影響を受けるとともに、多数の遺伝子座によって制御されていた。また、44個のQTLは栽培環境によって遺伝効果が変化しており、QTL×環境交互作用が認められた。日本水稲品種をさらに改良するためには、高密度SNPマーカーを利用して出穂期QTLを区別しつつ望ましい対立遺伝子を集積した系統を各栽培地域において作出するなど、新規の選抜手法が必要である。

Breeding Science 62: 223–234 (2012)

ヒマワリのイミダゾリノン耐性関連対立遺伝子は除草剤イマザピルの葉面散布による根バイオマス蓄積の変動において異なる応答をする

Carlos A. Sara · Mariano Bulos · Emiliano Altieri · María Laura Ramos

(Department of Biotechnology, Nidera S.A., Argentina)

"imisun" および "CLPlus" と名付けられた形質は、Ahasl1 座における 2 つの対立遺伝子により発現制御されているヒマワリのイミダブリノン除草剤耐性に関係している。 地上部のバイオマスを指標として評価すると、イミダブリノンの 1 種であるイマザピルに対する耐性程度は 2 つの形質間で異なった。しかし、これまで根系に及ぼす除草剤の影響については報告がない。 本研究の目的は、ヒマワリのイマザピル感受性系統 (ahasl1/ahasl1)、imisun 系統 (Ahasl1-1/Ahasl1-1) および CLplus 系統 (Ahasl1-3/Ahasl1-3) を用いて、イマザピル濃度の増大に伴う根バイオマスの変動を分析することであった。 $V2 \sim V4$ の生育時期に $0 \sim 480$ g/ha の濃度で除草剤を散布し、 14 日後に根バイオマスを評

価した。 Ahasl1 座における遺伝子型とイマザピルの濃度およびそれらの相互作用により、除草剤処理後の根バイオマスの蓄積量は減少した。根バイオマス量を50%減少させるイマザピルの濃度(GR_{50})は、実験に用いた3系統間において0.1%水準で有意に異なった。CLPlus系統は最大の GR_{50} を示した。この値は感受性系統よりも平均で300倍高く、imisun系統よりも8倍高かった。この結果は、CLPlus系統と imisun系統のAhasl1 座における異なる対立遺伝子がイマザピルの葉面散布濃度の上昇に対応して、根バイオマス蓄積の変動において異なる応答を示すことを示唆している。

Breeding Science 62: 235–240 (2012)

AGAMOUS 遺伝子の塩基配列を用いた系統進化学的解析から明らかになった自殖性野生ソバ Fagopyrum homotropicum Ohnishi の二倍体および四倍体の起原

富吉満之 $^{1)}$ · 安井康夫 $^{2)}$ · 大迫敬義 $^{3)}$ · Cheng-yun $\mathrm{Li}^{4)}$ · 大西近江 $^{2)}$

(1⁾京都大学大学院・地球環境学堂, ²⁾京都大学大学院・農学研究科, ³⁾京都府立大学・生命環境科学研究科, ⁴⁾Key Laboratory of Agricultural Biodiversity and Pests Control, Ministry of Education, Yunnan Agricultural University, China)

Fagopyrum homotropicum Ohnishi は中国の東チベット,雲南省および四川省に自生する自殖性の野生ソバであり、栽培ソバ (F. esculentum ssp. esculentum Moench) を他殖性から自殖性に転換できる有用な育種素材である。しかしながら、遺伝資源として重要であるにもかかわらず、F. homotropicum の遺伝的変異の解析

はほとんどなされていない。本研究において我々は核遺伝子 AGAMOUS (AG) の塩基配列に基づき、F.homotropicum の二倍 体および四倍体における遺伝的変異と系統関係を調査した。近 隣接合法により、3つの大きなグループ (グループ I, II, および III) が見いだされた。各グループには二倍体および四倍体の

F. homotropicum が含まれていた. 我々は 2つの分化した AG 配列を持つ四倍体,すなわちグループ I とグループ II に属する AG 配列を持つ四倍体,およびグループ II とグループ III に属する AG 配列を持つ四倍体を発見した. この結果は,明確に分化した 二倍体間で少なくとも二度の雑種形成が生じ,四倍体が起原し

たことを示唆している.遺伝的に分化した二倍体が四倍体化することによって付与された遺伝的多様性により、F. homotropicum はその分布域を中国の北部方向に広げることができたと推定できる.

Breeding Science 62: 241–247 (2012)

核 SSR マーカーによるサクラ(Prunus subgenus Cerasus)栽培品種の識別

加藤珠理 $^{1)}$ ・松本麻子 $^{1)}$ ・吉村研介 $^{1)}$ ・勝木俊雄 $^{2)}$ ・岩本宏二郎 $^{2)}$ ・津田吉晃 $^{3)}$ ・石尾将吾 $^{4)}$ ・中村健太郎 $^{4)}$ ・森脇和郎 $^{5)}$ ・城石俊彦 $^{6)}$ ・五條堀孝 $^{6)}$ ・吉丸博志 $^{2)}$

 $(^{1)}$ 森林総合研究所, $^{2)}$ 森林総合研究所・多摩森林科学園, $^{3)}$ ウプサラ大学・進化生物学センター, $^{4)}$ 住友林業株式会社, $^{5)}$ 遺伝学普及会, $^{6)}$ 国立遺伝学研究所)

日本にはサクラ(Prunus subgenus Cerasus)の栽培品種は数多く存在するが、外部形態での識別が困難な場合がある。本研究では、17種類の SSR マーカーを用いて、215 栽培品種を識別可能であるか評価した。その結果、半数以上の栽培品種は形態的に異なっており、遺伝子型で区別可能であった。一方で、22 栽培品種については、1 つの栽培品種のなかに偶発実生に由来すると思われる複数のクローンが混在していた。これらの栽培品種は、接ぎ木や挿し木のみによる増殖では維持されなかったこ

とが示唆された。また、同じ遺伝子型と判定される複数の栽培品種が23組確認された。これらの栽培品種の多くは、外部形態において違いが見られないことから、異名同品種であると考えられる。しかしながら、外部形態で区別できるものもいくつか確認され、枝変わりに由来する可能性がある。SSRマーカーを利用したクローン識別技術を導入することで、サクラの栽培品種間の関係を正確に整理することができた。

Breeding Science 62: 248–255 (2012)

アジアの1年生型野生イネの圃場条件下における他殖率の推定

Phuong Dang Thai Phan・蔭山宏樹・石川 亮・石井尊生 (神戸大学大学院・農学研究科)

アジアの野生イネ(Oryza rufipogon)には部分他殖性がみられ、高度な遺伝的多様性が観察される。そこで、この野生種の他殖率を正確に推定するために、まず栽培イネ品種の日本晴を1年生型の野生イネ系統 O. rufipogon W630 で戻し交雑し、野生イネの遺伝的背景を持つ2つの戻し交雑系統、R1 および R2を育成した。分子マーカーを用いてこれら系統の染色体構成を調べたところ、92%以上のマーカー座で野生種の染色体断片が確認された。また、雌ずい、雄ずいおよび穎花に関係する形質を調査したところ、R1系統は戻し交雑親のO. rufipogon W630と同じ花器形態を示したが、R2系統は内外穎のサイズが大きかった。 圃場試験は 2005 年、2006 年および 2008 年の3年間、計22の戻し交雑個体をそれぞれ O. rufipogon W630 の圃場区画の中央

部に配置し、自然条件下における他殖率を調査した。そして、それぞれの戻し交雑個体の後代をマイクロサテライトマーカーを用いて自殖もしくは他殖由来の種子かを判定した結果、R1系統の個体当たりの他殖率は4.04%から25.50%の広い範囲で観察され、平均値は10.20%であった。このことは野生イネの他殖は多くの環境要因に影響されやすいことを示唆している。R2系統の個体当たりの他殖率も幅広い変異を示した。R1系統とR2系統の他殖率の平均値の間には有意な違いは見られなかったことから、内外額のサイズの違いは野生イネの他殖率にあまり影響しないことを示唆している。

Breeding Science 62: 256–262 (2012)

チャ (Camellia sinensis) の高密度基準連鎖地図の構築

谷口郁也 ^{1,2)}・古川一実 ^{1,3)}・太田 (目徳) さくら ¹⁾・山口信雄 ^{1,4)}・氏原ともみ ⁵⁾・河野いづみ ^{6,7)}・福岡浩 フ ⁸⁾・田中淳一 ^{1,2,9)}

 $(^{1})$ 野菜茶業研究所・枕崎茶業研究拠点, $^{2})$ 筑波大学大学院・生命環境科学研究科, $^{3})$ 現:沼津工業高等専門学校, $^{4})$ 現:広島大学大学院・理学研究科附属臨海実験所, $^{5})$ 野菜茶業研究所・金谷茶業研究拠点, 6 STAFF 研究所, $^{7})$ 現:理化学研究所・脳科学総合研究センター, 8 野菜茶業研究所, 9 作物研究所)

チャではこれまでに、Pseudo-testcross 理論に基づき、優性マーカーによって連鎖地図が作成されてきた。しかし、優性マーカーは広範な材料に汎用的に利用できるランドマークマーカーとしては不向きである。そこで我々はゲノムおよび EST から共優性の SSR マーカーを開発し、これらをランドマークとして基準連鎖地図を作成した。 品種 'さやまかおり' と '金-Ck17' の正逆交雑に由来する F_1 集団 54 個体を連鎖解析に利用した。 F_1 集団を BC_1 集団とみなし、両親の連鎖地図が作成された。 ほとんどのマーカーの順序は両親間で矛盾が無かった。 我々は両親の

連鎖地図にマップされたマーカーのデータを統合し、コアマップを作成した。コアマップは総延長 1,218 cM であり、連鎖群の数はチャの染色体基本数である 15 に一致した。ここに、それぞれの連鎖群について両親の連鎖地図でコアマップを挟み込む形式の 441 SSRs, 7 CAPS, 2 STS and 674 RAPDs から成る統合連鎖地図を示す。作成された連鎖地図はチャの基準連鎖地図として利用できる.

Breeding Science 62: 263–273 (2012)

日本の圃場条件下での花粉源(B. napus)からレシピエント(B. juncea)への距離 と Brassica juncea × B. napus の交雑率の関係

津田麻衣¹⁾・奥崎文子¹⁾・金子幸雄²⁾・田部井豊¹⁾
(¹⁾農業生物資源研究所・遺伝子組換え研究センター,²⁾宇都宮大学・農学部)

輸入されている遺伝子組換えキャノーラ(Brassica napus)種子がこぼれ落ちて、輸入港周辺の道路沿いで自生することが確認されている。B. napus の近縁種で、B. napus との種間交雑親和性が高い B. juncea は、日本中に分布している。自生する遺伝子組換え B. napus が生物多様性に与える悪影響について社会的な関心が高まっているが、こぼれ落ちて自生する B. napus と雑草として自生する B. juncea 集団間の自然交雑についてはほとんど明らかにされていない。そこで、B. juncea × B. napus の距離と交雑率の関係を評価するために、突然変異由来の除草剤耐性 B. napus 「Bn0861」を花粉源として用い種間雑種の選抜を行った。

レシピエントの B. juncea 栽培品種「黄からしな」を栽培した圃場の中心に Bn0861 を栽培した。2009年の自然開花条件下における試験では、雑種は検出されなかった。しかし、2010年に人為的に花粉源の開花期を重複させる条件に設定したところ、混植区で 1.62% の交雑率であった。交雑率は、花粉源から遠ざかると急激に減少しており、交雑親和性の高さから想定されるより、圃場条件下での交雑率は低かった。以上の結果から、こぼれ落ち種子から自生した B. napus と雑草として自生する B. juncea 間の交雑率は、自然環境においては起こり難いことが示唆された。Breeding Science 62: 274–281 (2012)

根こぶ病原菌(Plasmodiophora brassicae)グループ 3 に対するハクサイ(Brassica rapa L.)の抵抗性遺伝子座の同定

加藤丈幸 $^{1,2)}$ · 畠山勝徳 $^{2)}$ · 吹野伸子 $^{2)}$ · 松元 哲 $^{2)}$ $^{(1)}$ 三重大学大学院 · 生物資源学研究科, $^{2)}$ 野菜茶業研究所)

ハクサイ (B. rapa) において、根こぶ病抵抗性 (CR) 遺伝子 Crr1 と Crr2 は Ano-01 菌および、病原性の強い Wakayama-01 菌に有効であるが、グループ 3 菌系に属する No. 14 菌には抵抗性を発揮しない、 F_1 品種「秋理想」は No. 14 菌に抵抗性を示すことから、より多くの菌系に対する抵抗性の付与を図るため、我々

は「秋理想」の抵抗遺伝子座の同定を試みた。その結果、本品種の抵抗性遺伝子は優性の一遺伝子として機能し、「CR新黄」の持つ抵抗性遺伝子座 CRb 近傍のマーカーと連鎖していた。さらに CRb 座周辺に新たなマーカーを開発し、「秋理想」および「CR新黄」の部分連鎖地図を構築し比較した。その結果、両品

種の抵抗性遺伝子座および共通マーカーの位置は極めてよく似ており、また、No. 14 菌に対する F_2 世代の抵抗性分離様式も、両品種は非常に類似していた。以上の結果から、「秋理想」の有する CR 遺伝子座は CRb、あるいはそれに極めて近い遺伝子座

であることを示唆する. 本研究における新規のマーカーは既報のマーカーよりも *CRb* の近傍に座乗しており、マーカー選抜を利用したハクサイの育種において有用である.

Breeding Science 62: 282–287 (2012)

ポプラ傷害誘導遺伝子の過剰発現によるオオタバコガ (Helicoverpa armigera) 幼虫に対する抵抗性の向上

Rongfeng Hu \cdot Jiehua Wang \cdot Yan Jin \cdot Yingjin Song \cdot Shaohui Yang

(School of Agriculture and Bioengineering, Tianjin University, China)

種間雑種であるポプラ (Populus trichocarpa × P. deltoids) から単離された PtdKTI5, PtdWIN4, PtdPOP とアメリカヤマナラシ (Populus tremuloides) から単離された PtKTI2 の 4 遺伝子がシロイヌナズナに導入された. 発現量は RT-PCR によって検証されている. 4 つの遺伝子が導入された組換えシロイヌナズナを摂

食させたオオタバコガ幼虫の器官形成、体重、生存性は研究室 内で評価された. ポプラ防御関連遺伝子がオオタバコガ幼虫時 の活性や幼虫後の器官形成に様々な程度に作用しており、草食 性昆虫に対する抵抗性の向上に利用できる可能性を示した.

Breeding Science 62: 288–291 (2012)